

NGS On-Demand Panel を用いた生殖細胞系列の遺伝学的検査法とその特性

◎加藤 勝¹⁾、高橋 透¹⁾、栞谷 沙織¹⁾、藤川 康則¹⁾
地方独立行政法人 大阪市民病院機構 大阪市立総合医療センター¹⁾

【背景】従来の検査法では膨大な労力が必要であった遺伝性疾患の検査もハイスループットである NGS 法が一般的に用いられるようになった。しかし、そのデータ量は膨大であるため真値の選別には適切な解析手法が求められている。

【目的】NGS シーケンス法では Sequencing error による誤検出を除外するため、Variant 検出アルゴリズムを用いてデータの選別を行うことが一般的である。検出された Variant の真偽および、棄却されたデータの中に有用であるデータが含まれる可能性を評価する目的で複数の解析手法による多重解析を行ったので報告する。【方法】2021 年 1 月から 12 月までに単一遺伝子疾患マルチジーンパネル検査を実施した 56 症例を対象にした。シーケンスは Ion PGM システムおよび On-Demand Panel を用いて実施した。データ解析は Ion Reporter で目的とする遺伝性疾患に限定した遺伝子領域の抽出を行い、Variant 検出アルゴリズムを用いて解析した。さらに同じ領域を Integrative Genomics Viewer (Broad Institute)を用い、目視によるリードデータの解析を行った。真の Variant と判断されたものについてはサンガーシーケン

ス法を実施し最終検証を行った。【結果】Ion Reporter の Variant 検出は 56 症例 49 件であり、IGV による解析で内 15 件を Sequencing error として棄却した。真の Variant と判断された 34 件はダイレクトシーケンス法での検証を行い、さらに 2 件を Sequencing error として棄却した。また、Ion Reporter で未検出であったが IGV によって検出された Variant が 1 症例 1 件認められた。【考察】Ion Reporter で検出され、IGV またはダイレクトシーケンス法にて否定された Variant (偽陽性) は一定の共通性が認められ、主に NGS 法の不得意とする塩基配列の特性が影響したと考えられる。一方、Ion Reporter で検出されず IGV にて検出された Variant (偽陰性) は、元々の配列に加え塩基置換が生じたことによるリード全体の Quality Score が減少したことが原因であった。Variant 検出アルゴリズムのみによる画一的な解析手法では、真偽が不確かな Variant が含まれたり検出できない Variant が存在する。複数の解析手法を組み合わせることにより NGS 検査の精度向上が期待できる。

大阪市立総合医療センター 06(6929)1221